

補助事業番号 2021M-170

補助事業名 2021年度 造血幹細胞の形成過程を制御する分子機構の解明補助事業

補助事業者名 小林 功

## 1 研究の概要

全ての種類の血液細胞を生涯にわたって供給できる造血幹細胞をiPS細胞(人工多能性幹細胞)から形成することができれば、多くの血液疾患の治療へ応用できると考えられるが、未だに実現していない。この現状を打破するために、本研究ではゼブラフィッシュという優れたモデル生物と、CRISPR/Cas9によるゲノム編集技術を応用した新しい基礎研究に取り組み、造血幹細胞の形成過程を分子レベルで解き明かすことに挑戦する。本研究の成果は、iPS細胞から効率良く造血幹細胞を形成する手法の確立に貢献できる可能性がある。

## 2 研究の目的と背景

全ての種類の血液細胞を生涯にわたって供給できる造血幹細胞をiPS細胞から形成することができれば、多くの血液疾患の治療へ応用できると考えられるが、未だに実現していない。iPS細胞は生体のほぼ全ての細胞へ分化可能な万能細胞であり、その特性は発生初期の受精卵とよく似ている。そのため、iPS細胞から造血幹細胞を形成するには、受精卵から造血幹細胞が形成されるまでの過程を生体外で模倣する必要があり、個体発生の過程において造血幹細胞がどのように形成されるのかを分子レベルで明らかにすることが急務となっている。

本研究では、発生生物学の分野で優れた実験モデルとして知られるゼブラフィッシュという熱帯魚を用いて、受精卵から生体が形成されるまでの過程で、血液細胞の源となる造血幹細胞がどのような遺伝子の制御を受けて形成されるのかを解明することを目的とする。

## 3 研究内容 <http://bio.w3.kanazawa-u.ac.jp/bio-s/kobayashi/>

様々な発生ステージのゼブラフィッシュ胚を用いた遺伝子発現解析から、30個以上の候補遺伝子をリストアップしたが、本研究では特にNotch関連シグナル伝達経路に注目した。Notchシグナルは造血幹細胞の発生に関与することは報告されていたものの、いつ、どのタイミングでどの分子がNotchを活性化しているのかについては不明な点が多かった。報告者は造血幹細胞の前駆体である血管芽細胞においてNotchシグナルの活性が高いことに注目し、そのタイミングで血管芽細胞の周囲に分布し、将来骨格筋や骨を形成する体節という組織に発現するJagged-2b (Jag2b) に注目した。

CRISPR/Cas9によるゲノム編集によってJag2bの機能を阻害したところ、ゼブラフィッシュ胚において形成される造血幹細胞の数が減少していた。一方で、Jag2bの発現を強制的に増強したところ、形成される造血幹細胞の数が増加した。このことから、Jag2bは造血幹細胞の形成を促進する分子である可能性が示唆された。

さらに詳細な解析を進めたところ、体節においてJag2bはEphrin A1bという遺伝子の発現を制御

し、Ephrin A1bはさらに隣接する体節細胞におけるWnt16の発現を促進することで、造血幹細胞の形成を促すためのシグナルを送っていることを見出した。このように、Jag2bから始まる造血幹細胞形成に関わる新たなシグナル伝達機構を解明することに成功した。

#### 4 本研究が実社会にどう活かされるか—展望

発生過程における造血幹細胞の形成は、万能細胞として知られるiPS細胞から造血幹細胞を形成する過程に類似すると考えられており、本研究で得られた成果はiPS細胞から造血幹細胞を効率良く分化誘導する技術で応用できる可能性がある。従って、Jag2bによる造血幹細胞形成の促進機構をiPS細胞の培養に応用（関連シグナルの添加または強制発現）することによって造血幹細胞の分化誘導効率が改善できる可能性があり、今後の再生医療への発展にも貢献できる可能性を秘めている。

#### 5 教歴・研究歴の流れにおける今回研究の位置づけ

実施責任者は大学院時代から一貫してゼブラフィッシュを用いた造血幹細胞の研究に携わってきており、これまでに研究成果が権威ある国際誌に多数の論文を報告してきた。

本事業で取り組んだ研究では、Jag2bという新たな造血幹細胞誘導因子を見出すことに成功しており、その成果は2022年のDevelopment誌に掲載されるなど、関連学会でも非常に高い評価を得ており、造血幹細胞形成に関わる新たな分子機構の一端を解明することに成功した。

#### 6 本研究にかかわる知財・発表論文等

##### [学術論文]

1. Yukino Wada, Hikaru Tsukatani, Chihiro Kuroda, Yurika Miyazaki, Miku Otoshi, Isao Kobayashi\*. Jagged 2b induces intercellular signaling within somites to establish hematopoietic stem cell fate in zebrafish. Development 149(7): dev200339, 2022. doi:10.1242/dev.200339

##### [学会発表]

1. Yukino Wada, Isao Kobayashi\*. Jagged-2b triggers intercellular signaling in the somite to establish the hematopoietic stem cell fate in zebrafish. The 50th Annual Scientific Meeting of the ISEH-Society for Hematology and Stem Cells, # 3019, Online (New York), Aug 25th, 2021 (口頭/ポスター発表) (Featured posters Discussion I) (査読あり)

2. 和田友紀乃, 塚谷光, 黒田千央, 宮崎由里圭, 小林功\*: Jagged-2bは体節内細胞間シグナル伝達を介して造血幹細胞の発生を制御する, 第44回日本分子生物学会, パシフィコ横浜(横浜), 演題番号: 1P-0396, 2021年12月1日, ポスター発表(日本語)

3. 藤田涼平, 大内円, 小林静静, 小林功\*: 母性由来Abcg2aは背側化を抑制して造血・血管発生を促進する, 第44回日本分子生物学会, パシフィコ横浜(横浜), 演題番号: 2P-0409, 2021年12月2日, ポスター発表(日本語)

7 補助事業に係る成果物

該当なし

8 事業内容についての問い合わせ先

所属機関名: 金沢大学理工研究域生命理工学系

(カナザワダイガクリコウケンキュウイキセイメイリコウガクケイ)

住 所: 〒920-1192

石川県金沢市角間町

担 当 者: 准教授 小林功(コバヤシイサオ)

担 当 部 署: 幹細胞発生学研究室

E - m a i l: ikobayashi@se.kanazawa-u.ac.jp

U R L: <https://www.kanazawa-u.ac.jp>